

Low-intensity Pulsed Ultrasound Enhances Angiogenesis and Ameliorates Left Ventricular Dysfunction in a Mouse Model of Acute Myocardial Infarction - Potential Involvement of Mechanotransduction -

著者	進藤 智彦
号	85
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3498号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00097135

(書式12)

氏 名	しんどう ともひこ 進藤 智彦
学 位 の 種 類	博士 (医 学)
学位授与年月日	平成 28 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研究科専攻	東北大学医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	Low-intensity Pulsed Ultrasound Enhances Angiogenesis and Ameliorates Left Ventricular Dysfunction in a Mouse Model of Acute Myocardial Infarction - Potential Involvement of Mechanotransduction - (低出力超音波治療 (LIPUS) は血管新生を促進し マウス急性心筋梗塞後の左室リモデリングを改善させる - メカノトランスダクション機構の重要性-)
論文審査委員	主査 教授 下川 宏明 教授 加賀谷 豊 教授 中山 雅晴

論 文 内 容 要 旨

【背景】急性心筋梗塞は循環器領域の大きな課題となっている。急性心筋梗塞後の左室リモデリングは、心不全増悪の重要な原因と考えられており、新たな治療戦略の開発が切に望まれている。当科では、以前に低出力パルス超音波 (low-intensity pulsed ultrasound ; LIPUS) 治療がブタ慢性心筋虚血モデルにおいて血管新生の誘導を介して心筋虚血を有意に改善させることを報告した。しかしながら、LIPUS 治療が急性心筋梗塞後の左室リモデリングに対しどのような効果が得られるか、またその血管新生効果がいかなる分子機序に基づくのかはいまだ明らかになっていない。

【目的】本研究では、LIPUS 治療が急性心筋梗塞 (acute myocardial infarction ; AMI) 後の左室リモデリングに対する効果を検証し、さらにその分子メカニズムの解明を目的とする。

【方法】マウスの急性心筋梗塞モデルを作製し、その心臓に対し経皮的に LIPUS (治療群) もしくは no-LIPUS (非治療群) を術後 1 週目に 3 回照射した (術後 1、3、5 日)。LIPUS 治療後は、術後 56 日まで経過を観察し、心臓超音波検査による心機能の評価や、生存率の解析を行った。また、急性期 (術後 3、6 日) と慢性期 (術後 28 日) の心臓を採取し、蛋白と mRNA の抽出、組織免疫染色による評価を行い、VEGF (vascular endothelial growth factor ; 血管内皮増殖因子) などの血管新生関連分子の発現定量、心筋組織中の毛細血管数のカウントなどを行った。さらに、培養ヒト血管内皮細胞を用いて蛋白/mRNA の発現定量、マイクロアレイやバイオペックスを用いた網羅解析を行った。網羅解析の結果に基づき、細胞膜上のメカノトランスダクション関連分子に対する siRNA を用いて、LIPUS による VEGF の発現効果がどのような影響を受けるのかを検証した。さらに、Caveolin-1 遺伝子を欠損させた遺伝子改変マウスを用いて超音波治療の効果を評価した。最後に、AMI が直接死因とされたヒト剖検検体を用いて、冠動脈責任病変末梢での caveolin-1 の発現を評価した。

【結果】LIPUS 治療は生存率を改善させ、MI 後の左室リモデリングを抑制させた。さらに、LIPUS 治療群では AMI 後の梗塞領域で血管新生を促進させる分子である VEGF、eNOS の発現増加、ERK1/2 と Akt のリン酸化亢進を認めた。培養血管内皮細胞を用いたマイクロアレイ解析では、LIPUS 照射群で VEGF signaling、focal adhesion pathway などを含む 1050 遺伝子の変動を認めた。β1-integrin や caveolin-1 といったメカノトランスダクションに関与すると言われる細胞膜分子の siRNA を用いたところ、各分子のノックダウンによって LIPUS が誘導する VEGF の発現が抑制された。また、caveolin-1 欠損マウスを用いた検討では、LIPUS による生存率の改善や MI 後リモ

(書式12)

デリングの抑制効果は消失した。ヒト剖検検体を用いた caveolin-1 の評価では、冠動脈責任病変末梢で有意に発現が亢進していた。

【結論】これらの結果から、LIPUS 治療は AMI 後の左室リモデリングを抑制し、そのメカニズムには細胞膜と下流分子を含むメカノトランスダクション機構が関与することが示された。

審査結果の要旨

博士論文題目 Low-intensity Pulsed Ultrasound Enhances Angiogenesis and Ameliorates Left Ventricular Dysfunction in a Mouse Model of Acute Myocardial Infarction - Potential Involvement of Mechanotransduction -（低出力超音波治療（LIPUS）は血管新生を促進しマウス急性心筋梗塞後の左室リモデリングを改善させる－メカノトランスダクション機構の重要性－）

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 循環器内科学分野

学籍番号 B2MD5065 氏名 進藤 智彦

近年、人口の高齢化と食生活の欧米化に伴い、虚血性心疾患患者数は増加の一途をたどっている。その中でも、急性心筋梗塞後の左室リモデリングは、心不全増悪の主要な原因であることから、循環器領域における解決すべき課題の一つとなっており、新たな治療戦略の開発が望まれている。本研究では、低出力パルス超音波（low-intensity pulsed ultrasound ; LIPUS）を用いた治療法（以下、LIPSU 治療）が、急性心筋梗塞後の左室リモデリングを抑制するか検証し、さらにその分子メカニズムについて検討しており、新しい低侵襲性治療法の開発を目指す意欲的な研究といえる。

まず、マウス急性心筋梗塞モデルを用いた検討を行い、LIPSU 治療が、急性心筋梗塞後の心臓において、血管増殖因子の発現を亢進して血管新生を誘導すること、心筋梗塞サイズを抑制すること、左室リモデリングを抑制すること、そして、死亡率を改善することを世界で初めて報告した。そして、マイクロアレイ解析や siRNA を用いた阻害実験を行い、その有効性の分子メカニズムとして、 $\beta 1$ -integrin や caveolin-1 をはじめとしたメカノトランスダクション機構が重要な役割を果たしていることを明らかにした。さらに、caveolin-1 欠損マウスを用いた実験も行い、caveolin-1 の果たす役割の重要性を再確認している。

本治療法は、麻酔や外科手術処置などを必要としない非侵襲的な治療法であることから、合併症を持つ重症患者や高齢患者に対しても、肉体的負担の少ない治療法と考えられる。また、超音波診断装置は、循環器領域のみならず、消化器領域・産婦人科領域・泌尿器科領域など多くの分野において、日常診療のツールとして世界中に広まっていることから、本研究の与えるインパクトは非常に大きい。今後、虚血性心疾患のみならず、幅広い疾患への臨床応用が大いに期待される。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。

(830 字/800-1000 字)